



تأثیر سطوح مختلف نیتروژن و زئولیت طبیعی بر خصوصیات کمی و کیفی استویا در شرایط آب‌وهوای اهواز

عبدالمهدی بخشنده^۱ - محمدحسین قرینه^۲ - علی‌رضا ابدالی^۳ - محمدرضا مرادی تلاوت^۳ - محمد رئیس‌زاده^{۴*}

تاریخ دریافت: ۱۳۹۳/۰۵/۰۵

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۴/۰۳/۲۰

چکیده

به منظور بررسی تأثیر مقادیر مختلف نیتروژن و زئولیت بر خصوصیات کمی و کیفی استویا، آزمایشی به صورت کرت‌های خردشده (اسپلیت پلات) بر پایه طرح بلوک‌های کامل تصادفی در سه تکرار در مزرعه آموزشی-پژوهشی دانشگاه رامین-خوزستان اجرا شد. عوامل مورد بررسی شامل نیتروژن در چهار سطح ۲۰۰، ۱۵۰، ۱۰۰، ۵۰ کیلوگرم در هکتار و زئولیت در سه سطح صفر، سه و شش تن در هکتار بودند. نتایج این تحقیق نشان داد، تحت سطوح کود نیتروژن و تیمارها صفاتی نظیر ارتفاع بوته، تعداد شاخه در بوته، قطر ساقه اصلی و شاخص سطح برگ در سطح یک درصد معنی دار گردیدند. همچنین برهم‌کنش تیمارها بر کلروفیل a و b و عدد کلروفیل متر در سطح یک درصد معنی دار گردیدند. عملکرد بیولوژیکی و عملکرد برگ تحت برهم‌کنش تیمارها در سطح یک درصد معنی دار شدند، که بیش‌ترین عملکرد بیولوژیک (۲۲۵۳ کیلوگرم بر هکتار) و بیش‌ترین عملکرد برگ (۱۴۲۶ کیلوگرم بر هکتار) در سطوح ۲۰۰ کیلوگرم نیتروژن بر هکتار و شش تن زئولیت بر هکتار به دست آمد. درصد استویوزید برگ نیز تحت سطوح نیتروژن و زئولیت و برهم‌کنش تیمارها در سطح یک درصد معنی دار شدند، که بیش‌ترین درصد استویوزید در سطح ۱۵۰ کیلوگرم نیتروژن بر هکتار به همراه سه تن زئولیت بر هکتار (۱۰/۶۷ درصد) به دست آمد.

واژه‌های کلیدی: استویوزید، عملکرد برگ، عملکرد بیولوژیک

مقدمه

(2001). دستیابی به کشاورزی پایدار در کنار افزایش عملکرد محصولات کشاورزی و تأمین سلامت جامعه از اهداف محققین در بخش کشاورزی است. استفاده از زئولیت کلینوپتیلولیت در اراضی کشاورزی به دلیل افزایش ظرفیت تبادل کاتیونی خاک و تمایل زیاد آن برای جذب و نگهداری آمونیم، می‌تواند نقش مؤثری در کاهش شستشوی عناصر غذایی خاک به ویژه نیتروژن داشته باشد (et al., 1999). زئولیت‌ها ترکیبات حفره‌دار و چارچوب‌های آلومینوسیلیکاتی (AlO₄, SiO₄) و با ساختمان کریستالی خود مانند غربال مولکولی عمل کرده و به وسیله قابلیت تبادل کاتیونی مناسب و از طرفی جذب انتخابی یون آمونیم که در حفرات و کانال‌های زئولیت قرار می‌گیرد، ولی اندازه این حفرات و کانال‌ها به گونه‌ای است که مانع از ورود باکتری‌های نیتروفیکاسیون کننده به داخل ساختمان زئولیت می‌شود، بنابراین در حضور زئولیت کلینوپتیلولیت در خاک نرخ تبدیل آمونیم به نترات کاهش پیدا می‌کند و این موجب کاهش شستشوی نیتروژن می‌گردد، (Mumpton et al., 1999). Gholamhoseini et al., 2008 در طی بررسی‌های خود نشان دادند که در آزمایشی اثر سطوح مختلف زئولیت و کود نیتروژن بر روی کلزا (*Brassica napus*) بر روی صفات کمی علوفه شامل عملکرد ماده

استویا (*Stevia rebaudiana*) یکی از ۹۵۰ جنس متعلق به خانواده بزرگ گیاهی کاسنی است. برگ‌های گیاه استویا به منظور شیرین‌سازی مواد غذایی مورد استفاده قرار می‌گیرند. شیرینی استویا ناشی از حضور گلیکوزیدهای دی‌ترپنوئیدی موجود در بخش‌های مختلف این گیاه است. نیتروژن یکی از عناصر کلیدی در تغذیه گیاهان زراعی به‌شمار آمده و مهم‌ترین عنصر محدودکننده رشد و عملکرد گیاهان محسوب می‌شود (Meinke et al., 1997). تحقیقات انجام شده در مصر نشان می‌دهد که افزایش دادن مصرف کود نیتروژن از ۱۰ تا ۳۰ کیلوگرم در هکتار موجب افزایش تدریجی در عملکرد برگ‌های تازه، برگ‌های خشک، ساقه و زیست‌توده می‌شود و هم‌چنین میزان کل کربوهیدرات‌های محلول در گیاه افزایش می‌یابد (Allam et al.,

۱ و ۲ - به ترتیب استاد، دانشیار و استادیار، دانشگاه کشاورزی و منابع طبیعی رامین خوزستان

۳ - دانشجوی کارشناسی ارشد زراعت، دانشگاه کشاورزی و منابع طبیعی رامین خوزستان

* - نویسنده مسئول: (Email: reiszadeh.m@gmail.com)

سالیانه حدود ۲۶۹ میلی‌متر، متوسط درجه‌حرارت ۲۳ و متوسط حداکثر و حداقل درجه‌حرارت به ترتیب ۳۶ و ۹/۵ درجه سانتی‌گراد، از لحاظ اقلیمی جز مناطق خشک و نیمه‌خشک محسوب می‌شود. این آزمایش به صورت کرت‌های خردشده در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی با سه تکرار اجرا گردید. هر کرت فرعی شامل شش خط به طول سه متر و عرض سه متر بوده، سطوح کود نیتروژن مصرفی شامل ۵۰، ۱۰۰، ۱۵۰ و ۲۰۰ کیلوگرم نیتروژن خالص بر هکتار) در کرت‌های اصلی اعمال شد و سطوح زئولیت مصرف‌شده بر مبنای تحقیقات مشابه انجام‌شده شامل صفر، سه و شش تن بر هکتار) در کرت‌های فرعی اعمال شد. به منظور جلوگیری از تأثیر تیمارها بر هم، فاصله بین کرت‌های اصلی یک متر و فاصله بین کرت‌های فرعی نیم‌متر در نظر گرفته شد. جهت خردکردن کلوخه‌ها و تسطیح اولیه زمین دو مرحله، دیسک در جهت عمود برهم انجام شد. پس از انجام دیسک نوبت اول برای تأمین فسفر مورد نیاز از کود فسفات‌تریپل استفاده شد و با دیسک نوبت دوم با خاک مزرعه مخلوط گردید. هر نشاء در گلدان مجزا به مزرعه منتقل گردید و نشاءها به فواصل ۵۰×۵۰ سانتی‌متر در ردیف‌های کشت، توسط دست، کشت گردیدند و با دست پای هر بوته محکم گردید، پس از انجام این عملیات، آبیاری انجام شد. تمام نشاءها در تاریخ ۹۱/۱۲/۱۶ کشت گردیدند. به منظور استفاده بهینه از کود نیتروژن، این کود به صورت سرک در دو مرحله به گیاه داده شد. به همین خاطر ۵۰ درصد سطوح کود نیتروژن به فاصله ۲۰ روز بعد از کشت نشاءها به گیاهان داده شد و ۵۰ درصد مابقی نیز به مدت ۴۰ روز بعد از کشت نشاءها به مزرعه داده شد. به این منظور برای تأمین کود نیتروژن مورد نیاز از کود اوره استفاده گردید. به علت این که گیاه استویا، یک گیاه دارویی و صنعتی می‌باشد و مستقیماً به مصرف انسان‌ها می‌رسد، در این طرح برای مبارزه‌ی علف‌های هرز از سموم شیمیایی استفاده نگردید، بلکه در طی شش مرحله وجین دستی و هم چنین استفاده از دستگاه حاشیه‌زن مبارزه با علف‌های هرز صورت گرفت. (هر دو هفته یک بار وجین دستی انجام شد). برداشت پس از تکمیل مراحل رشدونمو گیاه در تاریخ ۹۲/۳/۲۰ به صورت دستی و با داس و قیچی از ارتفاع ۲۰ سانتی متری از سطح خاک از خطوط میانی و با رعایت نیم‌متر حاشیه از هر طرف صورت گرفت. صفات مورد بررسی در طول دوره‌ی رشد شامل تعداد ساقه اصلی در بوته، میانگین طول ساقه اصلی، میانگین قطر ساقه اصلی، شاخص سطح برگ، عملکرد بیولوژیک (ساقه و برگ)، عملکرد اقتصادی (برگ خشک)، اجزاء کلروفیل، کارتنوئید، عدد کلروفیل متر و درصد استویوزید برگ‌ها بودند. مقدار کلروفیل برگ با استفاده از دستگاه کلروفیل متر دستی (Soil and Plant Analysis Division or SPAD 502) در دو مرحله در طی رشد رویش گیاه اندازه‌گیری شد، جهت ارزیابی کلروفیل برگ در مرحله رویش گیاه و نزدیک به زمان برداشت، اقدام به نمونه‌گیری گردید. بدین ترتیب کلروفیل با استون ۸۰ درصد استخراج شد و میزان

خشک، وزن خشک برگ و ساقه و شاخص سطح برگ معنی‌دار بوده‌است. Gholizadeh et al, 2007 با مطالعه اثرات تنش آب به همراه کاربرد زئولیت طبیعی بر خصوصیات کمی و کیفی گیاه دارویی بادرشبی (*Dracocephalum moldavica*) در شرایط گلخانه‌ای اظهار داشتند که مصرف زئولیت اثر معنی‌داری بر صفات وزن تر گیاه، وزن خشک گیاه، وزن خشک ریشه، وزن خشک اندام هوایی، سطح برگ، تعداد برگ، تعداد گل و درصد اسانس در گیاه داشت. Madani et al., 2010 در پژوهشی به ارزیابی کاربرد سطوح نیتروژن و سطوح زئولیت بر خصوصیات کمی و کیفی سیب‌زمینی (*Solanum tuberosum*) رقم آگریا پرداختند. نتایج این تحقیق نشان داد که اثر مقادیر مختلف زئولیت و نیتروژن بر تعداد ساقه در بوته، ارتفاع بلندترین ساقه اصلی، وزن خشک اندام هوایی، وزن کل غده در هکتار معنی‌دار شد. Utumi et al, 1999 با اجرای آزمایشی بر روی استویا به بررسی تأثیر کمبود عنصر غذایی نیتروژن در جذب عناصر پرمصرف به وسیله این گیاه پرداختند، آن‌ها اظهار داشتند که کمبود این عنصر غذایی منجر به کاهش جذب عناصر غذایی پرمصرف در این گیاه می‌گردد. Salmanzadeh karani, 2011 در نتایج حاصل از تحقیقات خود بر روی اثر کاربرد زئولیت در ریشه‌زایی قلمه‌های گل کاغذی (*Bougainvillea*) بیان نمودند که مصرف ۲۰ درصد ترکیب حجمی زئولیت با ماسه به عنوان بستر ریشه‌زایی قلمه‌های این گیاه دارد. Bozorgi et al, 2012 در آزمایشی با مصرف سطوح مختلف زئولیت (شاهد، چهار و هشت تن در هکتار) بر روی رشد و عملکرد گیاه خیار بیان کردند که صفات عملکرد میوه، تعداد میوه در بوته، طول میوه و ارتفاع گیاه تحت تأثیر مصرف زئولیت افزایش معنی‌داری را نشان داد. این آزمایش با هدف بررسی تأثیر کاربرد تلفیقی نیتروژن و زئولیت بر عملکرد کمی و کیفی استویا در شرایط آب‌وهوای اهواز (براساس آمار هواشناسی بلندمدت، شهر ملائانی با داشتن متوسط بارندگی سالیانه حدود ۲۶۹ میلی‌متر، متوسط درجه‌حرارت ۲۳ و متوسط حداکثر و حداقل درجه‌حرارت به ترتیب ۳۶ و ۹/۵ درجه سانتی‌گراد، از لحاظ اقلیمی جز مناطق خشک و نیمه‌خشک محسوب می‌شود) اجرا شد.

مواد و روش‌ها

به منظور بررسی تأثیر سطوح مختلف نیتروژن و زئولیت طبیعی بر عملکرد کمی و کیفی استویا در شرایط آب‌وهوایی اهواز یک آزمایش مزرعه‌ای در سال زراعی ۹۲-۱۳۹۱ در مزرعه پژوهشی دانشگاه کشاورزی و منابع طبیعی رامین خوزستان واقع در ۳۶ کیلومتری شمال شرقی اهواز و در حاشیه شرقی رودخانه کارون با عرض جغرافیایی ۳۱ درجه و ۳۵ دقیقه و طول جغرافیایی ۴۸ درجه و ۵۳ دقیقه و ارتفاع ۲۵ متر از سطح دریا اجرا شد. متوسط بارندگی

در هر بوته نیز به صورت دستی شمارش گردید. جهت تعیین عملکرد و اجزای عملکرد، کل بوته‌های برداشت‌شده از هر کرت، پس از بسته‌بندی و اتیکت‌گذاری، جهت برآورد وزن تر، توزین شدند، سپس نمونه‌ها با قرار گرفتن در آون در دمای ۷۲ درجه سانتی‌گراد به مدت ۴۸ ساعت و توزین مجدد، عملکرد ماده خشک تعیین گردید. برای اندازه‌گیری درصد استویوزید، از هر کرت نمونه برگ‌های جمع آوری و در آون ۷۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۴۸ ساعت خشک و سپس توسط آسیاب، پودر شده و نیم‌گرم پودر برگ استویا در ۵۰ سی‌سی اتانول ۷۰ درصد از هر کرت نمونه به دست آمد. از طریق دستگاه HPLC بعد از کالیبراسیون دستگاه اقدام به اندازه‌گیری درصد استویوزید برگ استویا شد. محاسبات آماری و تجزیه‌وارینانس با استفاده از نرم‌افزار SAS و رسم نمودارها با استفاده از نرم‌افزار Excel و مقایسه میانگین‌ها نیز به روش LSD در سطح پنج درصد انجام شد.

جذب نور توسط عصاره استخراج‌شده با استفاده از اسپکتروفتومتر در طول موج ۶۶۳ و ۶۴۵ نانومتر تعیین گردید. غلظت کلروفیل از طریق روابط زیر به دست آمد. در این روابط V حجم نمونه استخراج‌شده و W وزن تر نمونه است.

$$a \text{ (کلروفیل)} = \frac{Fw}{g} \times \frac{V}{(1000 \times w)} \times [2/69(nm \ 645) - (جذب در 645)]$$

$$b \text{ (کلروفیل)} = \frac{Fw}{g} \times \frac{V}{(1000 \times w)} \times [4/69(nm \ 663) - (جذب در 663)]$$

تعداد ۱۰ بوته از هر کرت به صورت تصادفی جهت تعیین برخی از صفات مورفولوژیکی مانند ارتفاع بوته، تعداد شاخه‌دهی هر بوته و قطر ساقه اصلی، انتخاب گردید. ارتفاع بوته با استفاده از متر از روی سطح خاک تا بالاترین ارتفاع شاخه در بوته اندازه‌گیری گردید، هم‌چنین با استفاده از کولیس، اندازه قطر ساقه اصلی اندازه‌گیری شد. تعداد شاخه

جدول ۱- خصوصیات فیزیکی و شیمیایی خاک مزرعه آزمایش

Table 1- Physical and chemical properties of the soil

بافت خاک Soil Texture	عناصر غذایی (0/0) (mgkg ⁻¹)			مواد آلی Organic matters (%)	اسیدیته خاک (pH)	هدایت الکتریکی EC (dS m ⁻¹)
	پتاسیم K	فسفر P	نیتروژن N			
لومی رسی Clay Loam	224	9	6	9	7.5	1.4

نتایج و بحث

عملکرد بیولوژیک و عملکرد برگ

بیولوژیک افزایش یافته است. در همین رابطه در آزمایشی که توسط 2011 Azarpour *et al.* با کاربرد زئولیت طبیعی در گیاه لوبیاچشم‌بلیلی (*Vigna unguiculata*) انجام شد، نتایج نشان داد با افزایش کود نیتروژن تا سطح ۱۵۰ کیلوگرم در هکتار، مصرف و عدم مصرف زئولیت، تفاوت معنی‌داری بر عملکرد بیولوژیک ندارد. ولیکن افزایش کود نیتروژن تا سطح ۲۰۰ کیلوگرم در هکتار و وجود زئولیت اثر معنی‌داری بر افزایش عملکرد داشت که این امر نشان‌دهنده کارایی بالاتر نیتروژن در حضور زئولیت دارد. نتایج حاصل از تجزیه‌وارینانس نشان داد که اثر متقابل سطوح کود نیتروژن و زئولیت بر صفت عملکرد برگ در سطح یک درصد معنی‌دار گردید (جدول ۲). مقایسات میانگین‌ها نشان داد که بیش‌ترین عملکرد برگ استویا (۱۴۲۶ کیلوگرم در هکتار) مربوط به تیمار ۲۰۰ کیلوگرم نیتروژن در هکتار به همراه کاربرد شش‌تن زئولیت در هکتار بود (جدول ۳). در این راستا، Liu *et al.*, 2011 در مطالعه‌ای به بررسی تأثیر کودهای آلی و شیمیایی بر رشد و نمو گیاه استویا پرداختند و نتایج به دست آمده حاکی از آن بود که، مصرف کودهای شیمیایی اثر مثبت بر صفاتی هم‌چون وزن خشک گیاه دارد.

نتایج حاصل از تجزیه‌وارینانس (جدول ۲) نشان داد که اثر متقابل سطوح کود نیتروژن و زئولیت بر عملکرد بیولوژیک استویا در چین‌اول در سطح یک درصد معنی‌دار گردید. هم‌چنین مقایسه میانگین اثرات متقابل (جدول ۳) نشان داد که بیش‌ترین میزان عملکرد بیولوژیک (۲۲۵۳ کیلوگرم در هکتار) در تیمار ۲۰۰ کیلوگرم نیتروژن خالص در هکتار همراه با کاربرد شش‌تن زئولیت در هکتار بود. مصرف کود نیتروژن باعث افزایش رشد رویشی گیاه شده و در نتیجه عملکرد بیولوژیک افزایش پیدا می‌کند. در همین رابطه در آزمایشی گزارش شد که با افزایش دادن مصرف کود نیتروژن از ۱۰ تا ۳۰ کیلوگرم در هکتار موجب افزایش تدریجی و قابل‌ملاحظه‌ای در عملکرد برگ‌های تازه، برگ‌های خشک، ساقه و زیست‌توده گیاه استویا می‌شود (2001 Allam *et al.*). هم‌چنین استفاده از زئولیت باعث بالارفتن ظرفیت تبادل کاتیونی در خاک می‌شود، که باعث افزایش کارایی مصرف کود نیتروژن در خاک و در نتیجه استفاده بهتر گیاه از کود موجود در خاک شده و به دنبال رشد رویشی، عملکرد

جدول ۲- تجزیه واریانس عملکرد و عملکرد بیولوژیک استویا

Table 2- Analysis of variance of yield and biological yield of Stevia

منابع تغییر S.O.V	درجه آزادی (d.f)	مجموع مربعات Sum of squares	
		عملکرد برگ خشک leaf yield	عملکرد بیولوژیک biological yield
تکرار Replication			
نیتروژن Nitrogen	2	.66667 ^{n.s}	2994.91722 ^{n.s}
خطای اصلی main error	3	263754.66667 ^{**}	47164.56750 [*]
زئولیت Zeolite	6	280.66667	6737.35167
برهمکنش Interaction	2	1512.66667 ^{**}	12262.76722 [*]
خطای فرعی Minor error	11	28323 ^{**}	66267 ^{**}
	22	623.33	22655.08
%C.V		4.12	22.09

n.s, *, ** به ترتیب غیر معنی دار و معنی دار در سطح احتمال پنج درصد و یک درصد

n.s, *, ** respectively non-statistically significant and significant at 5% and 1%

جدول ۳- مقایسه میانگین برهمکنش دو عامل سطوح کود نیتروژن و زئولیت برای عملکرد بیولوژیک و عملکرد برگ استویا

Table 3- Comparison of the interaction of two factors of zeolite for nitrogen and biological yield and leaf yield Stevia

سطوح کود نیتروژن Nitrogen Level (kg ha ⁻¹)	سطوح زئولیت (ton ha ⁻¹) Zeolite Level	عملکرد بیولوژیک (kg ha ⁻¹) biological yield	عملکرد برگ (kg ha ⁻¹) leaf yield
50	0	1083e	610e
	3	1203de	806d
	6	1153e	786d
100	0	1273dec	853d
	3	1816cd	1086c
	6	1873bc	1073c
150	0	1990ab	1280b
	3	2086a	1363ab
	6	2143a	1380a
200	0	1433dec	1376ab
	3	2216a	1416a
	6	2253a	1426a

اعداد با حروف مشترک در هر ستون دارای اختلاف معنی دار (P<0.05) نمی باشند

Numbers followed by the same letter are not significantly differentns (P<0.05)

شاخه در بوته (۱۰ عدد) در تیمار ۱۵۰ کیلوگرم نیتروژن خالص در هکتار به همراه کاربرد تیمار شش تن زئولیت در هکتار بود. (Rashid *et al.*, 2013) به بررسی تأثیر کاربرد مقادیر مختلف نیتروژن (۰، ۲۰، ۴۰ و ۶۰ کیلوگرم در هکتار) بر روی رشد و عملکرد گیاه استویا پرداختند. نتایج نشان داد که گیاهان پرورش یافته تحت تیمارهای ۴۰ و

خصوصیات مورفولوژیکی

در بررسی خصوصیات مورفولوژیکی، تجزیه واریانس تعداد شاخه در بوته (جدول ۴) نشان داد که اثر متقابل سطوح کود نیتروژن و زئولیت بر صفت فوق در سطح یک درصد معنی دار گردید. نتایج مقایسه میانگین اثرات متقابل (جدول ۵) نشان داد که بیشترین تعداد

کیفی یونجه این نتیجه بدست آمد که ارتفاع و وزن خشک کل گیاه به طور معنی داری تحت تأثیر مصرف زئولیت قرار گرفت (Turan, 2006). تجزیه واریانس شاخص سطح برگ (جدول ۴) نشان داد که اثر متقابل سطوح کود نیتروژن و زئولیت بر صفت فوق در سطح یک درصدی معنی دار گردید. نتایج مقایسه میانگین اثرات متقابل (جدول ۵) نشان داد، بیشترین شاخص سطح برگ (۴/۸۸) در تیمار ۲۰۰ کیلوگرم نیتروژن خالص در هکتار به همراه کاربرد تیمار شش تن زئولیت در هکتار بود. نتایج این آزمایش با یافته‌های (Farahmand et al, 2008 در بررسی بر روی گیاه گل‌نرگس شیراز (*Narcissus tazetta*) که با مصرف زئولیت آمیخته به خاک سبب افزایش سطح برگ، قطر ساقه و وزن خشک و تر برگ‌ها هم‌خوانی دارد. نتایج نشان می‌دهد که با افزایش نیتروژن و زئولیت، افزایش شاخص سطح برگ روند صعودی طی می‌کند.

۶۰ کیلوگرم نیتروژن در هکتار به شکل معنی‌داری تعداد شاخه و برگ را در مقایسه با سطوح دیگر تحت تأثیر قرار داد. طبق نتایج حاصل از تجزیه واریانس (جدول ۴) اثر متقابل دو عامل کود نیتروژن و زئولیت بر قطر ساقه اصلی بوته استویا در سطح یک درصد معنی دار گردید. مقایسات میانگین اثرات متقابل (جدول ۵) نشان داد که بیشترین قطر ساقه (۱/۶۶ سانتی‌متر) در تیمار ۲۰۰ کیلوگرم نیتروژن خالص در هکتار به همراه کاربرد شش تن زئولیت در هکتار بود. طبق نتایج حاصل از تجزیه واریانس (جدول ۴) اثر متقابل دو عامل کود نیتروژن و زئولیت بر ارتفاع بوته در سطح یک درصد معنی دار گردید. بیشترین ارتفاع (۹۶ سانتی‌متر) مربوط به تیمار ۲۰۰ کیلوگرم نیتروژن خالص در هکتار همراه با کاربرد شش تن زئولیت در هکتار به دست آمد (جدول ۵). به نظر می‌رسد که افزایش ارتفاع گیاه در نتیجه استفاده بهتر از شرایط رطوبتی و نیز مصرف بهینه ذخایر غذایی موجود در دسترس گیاه باشد. در همین رابطه در بررسی مقادیر مختلف زئولیت بر خصوصیات کمی و

جدول ۴- تجزیه واریانس صفات مورفولوژیک استویا
Table 4- Morphological Analysis of variance Stevia

منابع تغییر S.O.V	درجه آزادی (d.f)	مجموع مربعات Sum of squares			
		تعداد شاخه در بوته branches per plant	قطر ساقه اصلی stem diameter	ارتفاع بوته plant height	شاخص سطح برگ leaf area index
تکرار Repeat					
نیتروژن Nitrogen	2	1.38 ^{n.s}	.0005 ^{n.s}	17.38 ^{n.s}	.00007 ^{n.s}
خطای اصلی main error	3	62.3 ^{**}	49 ^{**}	2090.75 ^{**}	1.22 ^{**}
زئولیت Zeolite	6	5.27	.041	5.50	.006
برهمکنش Interaction	2	12.38 ^{**}	.200 ^{**}	764.38 ^{**}	.20 ^{**}
خطا فرعی Minor error	11	82.97 ^{**}	.77 ^{**}	3054.3 ^{**}	1.45 ^{**}
%C.V	22	10.61	.07	135.94	.01
		8.28	3.54	5.30	.54

n.s, *, ** به ترتیب غیر معنی‌دار و معنی‌دار در سطح احتمال پنج درصد و یک درصد
n.s, *, ** respectively non-statistically significant and significant at 5% and 1%

به طوری که مقایسه نتایج قرائت SPAD و تعیین کلروفیل به روش عصاره‌گیری و قرائت توسط اسپکترومتر هم‌بستگی معنی‌داری (R=0/95) گزارش شده است (Yadav, 1999). با حضور نیتروژن در اجزاء کلروفیل می‌توان انتظار داشت که با افزایش میزان کود نیتروژن، اثر معنی‌داری بر میزان کلروفیل برگ‌ها داشته باشد. وجود کلروفیل به عنوان عامل جذب نور و سنتز مواد لازم برای رشد و نمو گیاهان وابسته به این عنصر حیاتی است (Saber hameshagi, 2014).

طبق نتایج به دست آمده از تجزیه واریانس (جدول ۶) اثر برهم‌کنش سطوح کود نیتروژن و نیز زئولیت بر میزان عدد کلروفیل متر در سطح یک درصد معنی دار گردید. بیشترین مقدار عدد کلروفیل (۴۷/۴۰) مربوط به تیمار ۱۵۰ کیلوگرم نیتروژن خالص در هکتار به همراه سه تن زئولیت در هکتار و کمترین آن (۴۰/۵) در تیمار ۵۰ کیلوگرم نیتروژن خالص در هکتار و عدم کاربرد زئولیت بود (جدول ۵). نتایج حاصل از اندازه‌گیری کلروفیل به روش SPAD می‌تواند با برآورد مقدار کلروفیل به روش عصاره‌گیری مرتبط باشد.

جدول ۵- مقایسه میانگین اثرات متقابل دو عامل سطوح کود نیتروژن و زئولیت برای صفات مورفولوژیک و اجزاء کلروفیل استویا
 Table 5- Comparison of interaction effects of the zeolite for nitrogen fertilizer and chlorophyll morphological traits and components of Stevia

سطح کود نیتروژن (kg ha ⁻¹) Nitrogen Level	سطح زئولیت (ton ha ⁻¹) Zeolite Level	تعداد شاخه در بوته per plant branches	قطر ساقه (cm) Stem diameter (cm)	ارتفاع بوته (cm) Plant height (cm)	شاخص سطح برگ Leaf area index	عدد کلروفیل Chlorophyll values	کلروفیل a (mg g.fw ⁻¹) chlorophyll A	کلروفیل b (mg g.fw ⁻¹) chlorophyll b	کارتنوئیدها Cartenoides
50	0	4.33f	1.16d	33h	4.17g	40.53e	.08c	.027d	1.34abc
	3	6e	1.20d	47g	4.41f	41.7de	.07c	.029d	1.14abc
	6	6e	1.26dc	46.66g	4.41f	41.06de	.08c	.04c	1.65a
100	0	5.66e	1.26dc	49.66gf	4.51e	42.9dc	.10b	.04c	1.69a
	3	5.66e	1.33bc	52ef	4.59d	41.7de	.10ab	.04c	1.40abc
	6	6.33bc	1.33de	55.66de	4.65c	42.16de	.11ab	.042abc	1.41abc
150	0	7.66bc	1.36bc	50.33gf	4.68c	45.46ab	.115a	.041bc	.90c
	3	7.33dc	1.43b	58.33dc	4.78b	47.40a	.111ab	.044abc	1.58ab
	6	10a	1.63a	64.66b	4.84a	44.76bc	.118a	.048a	1.57ab
200	0	7.66bc	1.40b	58.66dc	4.69c	45.03bc	.113ab	.043abc	1.62a
	3	8.33bc	1.40b	60c	4.79b	45.43ab	.117a	.046abc	1.15abc
	6	8.66b	1.66a	69a	4.88a	45.70ab	.114a	.048ab	.98bc

اعداد با حروف مشترک در هر ستون دارای اختلاف معنی دار (P<0.05) نمی باشد

Numbers followed by the same letter are not significantly differentns (P<0.05)

جدول ۶- تجزیه واریانس صفات مربوط به کلروفیل
Table 6- Analysis of variance of chlorophyll

منابع تغییر S.O.V	درجه آزادی (df)	مجموع مربعات Sum of squares			
		کلروفیل متر chlorophyll values	کلروفیل a chlorophyll a	کلروفیل b bchlorophyll b	کارتنوئید Cartenoids
تکرار Repeat					
نیتروژن Nitrogen	2	.22 ^{n.s}	.00004 ^{n.s}	.000006 ^{n.s}	.149 ^{n.s}
خطای اصلی main error	3	147.9 ^{**}	.007 ^{**}	.001 ^{**}	.280 ^{n.s}
زئولیت Zeolite	6	21.85	.0004	.0006	.677
اثر متقابل Interaction	2	2.98 ^{n.s}	.0001 ^{n.s}	.0003 [*]	.052 ^{n.s}
خطا فرعی Minor error	11	163.98 ^{**}	.007 ^{**}	.001 ^{**}	2.41 ^{n.s}
	22	36.49	.0009	.0004	2.71
% C.V		2.19	5.30	11.53	26.008

ns و * و ** به ترتیب غیرمعنی دار و معنی دار در سطح احتمال پنج درصد و یک درصد
ns, *, ** respectively non-statistically significant and significant at 5% and 1%

تیمار ۱۰۰ کیلوگرم نیتروژن خالص و عدم کاربرد زئولیت در هکتار و کم‌ترین آن (۰/۹) در تیمار ۱۵۰ کیلوگرم نیتروژن خالص و عدم کاربرد زئولیت در هکتار بود (جدول ۵).

درصد استویوزید

براساس نتایج به دست آمده از تجزیه واریانس (جدول ۷) معلوم گردید که اثر متقابل تیمارها در سطح یک درصد بر این صفت معنی دار است. نتایج حاصل از مقایسه میانگین‌ها مشخص کرد که بیش‌ترین مقدار درصد استویوزید (۱۰/۶۷) مربوط به تیمار ۱۵۰ کیلوگرم نیتروژن خالص به همراه سه تن زئولیت در هکتار و کم‌ترین آن (۴/۳۹) مربوط به تیمار ۲۰۰ کیلوگرم نیتروژن خالص به همراه سه تن زئولیت در هکتار به دست آمد (جدول ۸). نتایج حاکی از آن است که با افزایش میزان کود نیتروژن، میزان استویوزید برگ‌ها افزایش می‌یابد، لیکن اگر این افزایش کود از یک‌حد مشخصی (۱۵۰ کیلوگرم) بیش‌تر شود، اثر منفی بر درصد استویوزید برگ‌ها داشته و موجب کاهش آن می‌شود. در مطالعات انجام شده مشخص شد که با افزایش مصرف کود نیتروژن از ۱۰ تا ۳۰ کیلوگرم در هکتار، روند افزایش تدریجی و معنی‌داری در محتوای استویوزید مشاهده گردید. در این بررسی از تیمار ۳۰ کیلوگرم نیتروژن در هکتار، افزایش استویوزید به میزان ۱/۹۹ درصد به دست آمد (Allam et al., 2001). براساس مطالعات صورت گرفته در سراسر جهان، ارتباط نزدیکی بین تأمین موادغذایی و تجمع گلیکوزیدهای استویول در گیاه استویا وجود دارد (Azarpour et al., 2014).

طبق نتایج حاصل از تجزیه واریانس (جدول ۶) اثر متقابل سطوح کود نیتروژن و زئولیت بر میزان کلروفیل a برگ‌های استویا در سطح یک درصد معنی دار گردید. همین‌طور طبق مقایسه میانگین (جدول ۵) بیش‌ترین میزان کلروفیل a مربوط به تیمارهای ۱۵۰ کیلوگرم نیتروژن خالص در هکتار به همراه تیمار شش تن زئولیت در هکتار (۰/۱۱) و کم‌ترین آن (۰/۰۷) در تیمار ۵۰ کیلوگرم نیتروژن خالص در هکتار و سه تن زئولیت در هکتار بود. رشد برگ‌ها مستلزم انجام فرآیند فتوسنتز می‌باشد. این نوع فرآیند با حضور کلروفیل در گیاه انجام می‌گیرد که در این راستا کود نیتروژن تأثیر مثبتی بر افزایش میزان کلروفیل در برگ‌ها داشته‌است، حضور زئولیت می‌تواند در افزایش کارایی استفاده گیاه از نیتروژن موجود شود. طبق نتایج حاصل از تجزیه واریانس (جدول ۶) اثر متقابل این دو فاکتور بر صفت میزان کلروفیل b در سطح یک درصد معنی دار گردید. هم‌چنین طبق مقایسه میانگین‌ها (جدول ۵) بیش‌ترین میزان کلروفیل b (۰/۰۴) در تیمار ۱۵۰ کیلوگرم نیتروژن خالص در هکتار به همراه شش تن زئولیت در هکتار و کم‌ترین میزان کلروفیل b مربوط به تیمارهای ۵۰ کیلوگرم نیتروژن خالص در هکتار و عدم کاربرد زئولیت (۰/۰۲) بود. کود نیتروژن اگر درصد خیلی پایینی مصرف شود که نیاز گیاه را برآورده نسازد، نمی‌تواند در تشکیل کلروفیل در برگ‌ها مؤثر واقع شود. طبق نتایج حاصل از تجزیه واریانس (جدول ۶) مشخص گردید که تیمارهای کود نیتروژن و نیز تیمارهای زئولیت اثر معنی‌داری بر میزان کارتنوئید ندارند. براساس نتایج به دست آمده از تجزیه واریانس (جدول ۶) اثر متقابل سطوح کود نیتروژن و زئولیت معنی دار نگردید. بیش‌ترین میزان آن (۱/۶۹) در

جدول ۷- تجزیه واریانس استویوزید برگ استویا
Table 7- Analysis of variance Steviozed Stevia leaf

منابع تغییر S.O.V	درجه آزادی (df)	مجموع مربعات Sum of squares استویوزید steviozed
تکرار Repeat	2	.073*
نیتروژن Nitrogen	3	22.06**
خطای اصلی main error	6	.029
زئولیت Zeolite	2	11.51**
اثر متقابل Interaction	11	95.75**
خطا فرعی Minor error	22	.10
%C.V		.769

n.s, *, ** و N.S به ترتیب غیر معنی دار و معنی دار در سطح احتمال پنج درصد و یک درصد
n.s, *, ** respectively non-statistically significant and significant at 5% and 1%

جدول ۸- مقایسه میانگین اثرات متقابل سطح کود نیتروژن و زئولیت بر درصد استویوزید برگ استویا
Table 8- Mean comparison interaction effects the nitrogen fertilizer and zeolite on the leaves of Stevia Steviozed

سطوح نیتروژن (kg ha ⁻¹) Nitrogen Level	سطوح زئولیت (ton ha ⁻¹) Zeolite Level	درصد استویوزید Percent of steviozed
50	0	8.07h
	3	8.68f
	6	10.19c
100	0	9.84d
	3	9.65e
	6	8.37g
150	0	9.53e
	3	10.67a
	6	10.48b
200	0	10.16c
	3	4.39i
	6	9.56e

اعداد با حروف مشترک در هر ستون دارای اختلاف معنی دار (P<0.05) نمی باشند
Numbers followed by the same letter are not significantly differentns (P<0.05)

اثر معنی دار دارد. نتایج نشان داد که بیشترین میزان عملکرد بیولوژیک (۲۲۵۳ کیلوگرم در هکتار) و بیشترین عملکرد برگ استویا (۱۴۲۶ کیلوگرم در هکتار) مربوط به تیمار ۲۰۰ کیلوگرم نیتروژن در هکتار به همراه کاربرد شش تن زئولیت در هکتار بود. استفاده از زئولیت باعث بالارفتن ظرفیت تبادل کاتیونی در خاک می شود، که باعث افزایش کارایی مصرف کود نیتروژن در خاک و در نتیجه استفاده بهتر گیاه از کود موجود در خاک شده است و به دنبال آن رشد رویشی (عملکرد بیولوژیک و عملکرد برگ) افزایش یافته است.

نتیجه گیری

گیاه استویا، گیاهی چندساله و در هر سال دارای چندچین می باشد. کاشت این گیاه در تاریخ ۹۱/۱۲/۱۶ انجام شد. برداشت در تاریخ ۹۲/۳/۲۰ صورت گرفت. نتایج به دست آمده حاکی از آن است که گیاه استویا با توجه به این که برای اولین بار در این منطقه مورد کشت قرار گرفت، با شرایط آب و هوایی منطقه سازگاری داشته است. مصرف کود نیتروژن و کاربرد زئولیت بر عملکرد بیولوژیک و عملکرد برگ و همچنین بر صفات مورفولوژیک گیاه و کود نیتروژن بر اجزاء کلروفیل

References

1. Azarpour, E., Motamed, M. K., and a Bozorgi, H. R., 2014. Stevia cultivation and promotion. Lahijan of Islamic Azad University Press.
2. Gholizadeh, A., Esfahani, M., and Azizi, M. 2007. Effects of water stress and natural zeolite on qualitative and

- quantitative function in badrshby plant. Journal of Research and reconstruction of natural resources (37): 96-102. (In Persian).
3. Madani, H., Farhadi, A., Pazuki, A. S. R., and Changizi, M. 2010. The effect of different levels of nitrogen and zeolite on quantitative and qualitative characteristics Agria potatoes in Arak. The findings of modern agriculture 3(4): 379- 391. (In Persian).
 4. Salmanzadeh Karani, G., Honarvar, M., and Samani Babaie, R. 2011. The effect of zeolite and the cuttings in rooting cuttings rosette. Fifth National Conference New Ideas in Agriculture. Isfahan. 81-78. (in Persian)
 5. Saber hameshagi, F., Torang, A.S. R., mobalege, M. and Dehpour, AS. 2014. Effect of different levels of nitrogen and potassium on morphological and chemical characteristics of the Stevia plant. The findings of modern agriculture. 7(2): 128-135 (In Persian).
 6. Gholamhoseini, M., Qalykhany, M., and Malakote, M. G. 2008. The effect of different levels of nitrogen and zeolite on forage qualitative and quantitative yield autumnal canola. Science and Technology of Agriculture and Natural Resources 12 (45): 537-548 (In Persian).
 7. Farahmand, H. F. Nazare, S. A. Eshghi, S., and Khoshkhoie, M. 2008. The use different amounts of natural zeolite and Ethephon amaryllis the production of Shiraz. Abstracts of articles Fifth International Congress of Horticultural Science. Shiraz, Iran. (In Persian).
 8. Allam, A. I., Nassar, A. m., and Besheit, S. Y. 2001. Nile. Enal.sci.eg/Arcjournal/ uga.htm. Alvarez, m.(1984). Stevia rebaudiana bert. Estado atual do conhecimento, p. 118. Universidade Estadual de Maringa, maringa.
 9. Azarpour, E., Motamed, M. K., Moraditochae, M., and Bozorgi, H. R. 2011. Effects of zeolite application and nitrogen fertilization on yield components of cowpea (*Vigna unguiculata L.*). World Applied Sciences Journal, 14(5): 687-692. (In Persian).
 10. Bozorgi, H. R., Bidargh, S., Azarpour, E., Khosravi Danesh, R., and moraditochae, M. 2012. Effects of natural zeolite application under foliar spraying with humic acid on yield and yoeld components of cucumber (*Cucumis sativus L.*). International Journal of Agriculture and Crop Sciences 20(4): 1485-1488.
 11. Liu, X., Ren, G., and Shi, Y. 2011. The effect of organic manure and chemical fertilizer on growth and development of Stevia rebaudiana Bertoni. Energy Procedia 5: 1200-1204.
 12. Meinke, H., Harmmer, G. L., Keulen, H. V., Rabbinge, R., and Keating, B. A. 1997. Improvement wheat simulation capabilities in Australia from a cropping systems perspective: water and nitrogen effects on spring wheat in a semi-anid environment. Developments in Crop Science (25): 99-112
 13. Mumpton, F. A. 1999. La roca magica: uses of natural zeolites in agriculture and industry. Proceedings of the National Academy of Sciences 96(7): 3463-3470.
 14. Rashid, Z., Rashid, M., Inamullah, S., Rasool, S., and Bahar, F.A. 2013. Effect of different levels of farmyard manure and nitrogen on the yield and nitrogen uptake by stevia (*Stevia rebaudiana Bertoni*). African Journal of Agricultural Research 8(29): 3941-3945.
 15. Turan, Z. M. 2006. Effect of natural zeolite on growth and yield of Medicago Sativa L. Journal of agronomy 5:118-121.
 16. Utumi, M. M., Monnerat, P. H., Pereira, P. R. G., Fontes, P. C. R., and Godinho, V. D. P. C. 1999. Macronutrient deficiencies in Stevia: Visual symptoms and effects on growth, chemical composition, and stevioside production. Pesquisa Agropecuária Brasileira 34(6): 1038-1043.
 17. Yadav, R. L. 1999. Sugarcane production technology, constraints and potentialities. Oxford and IBH Publishing Co. Pvt. P. 291.



Effect of Nitrogen Level and Natural Zeolite on Qualitative and Quantitative Function of *Stevia rebaudiana* (Bertoni) in Ahvaz Climatic Condition

A. Bakgshandeh¹- M. H. Gharineh²- A. R. Abdale³- M. R. Moraditelavat³- M. Reiszadeh^{4*}

Received: 27-07-2014

Accepted: 10-06-2015

Introduction

Nowadays due to population growth and higher levels of welfare, one of the main social problems is providing appropriate food resources. In this regard, finding the alternative food resources, improvement of existing technologies and providing new technologies seem inevitable. Although sugar is a very important substance and has special place in household's basket and economy, the harmful effects of excessive consumption of sugar should not be neglected. Stevia is a plant with a widespread root system which has a couple of years lifetime. The stems of Stevia are brittle and small and produce elliptical leaves. At first the leaves will be dried and then they will be powdered or wetted in the water and will be used for sweetening of beverages, sweet drinks, chewing gums, chocolates, cakes, etc. Stevia is one of 950 genera belonging to the family of Asteraceae plant. Stevia leaves are used for sweetening foods. Sweetness of Stevia comes from the d. terpenoides glycosides that exist in different parts of the plant. Glycosides are the result of secondary metabolism in the plants. In different components of the Stevia body, there are about 10 major glycoside compositions which the steviozede and Rbadiozide glycosides have more importance in sweetening property of Stevia compared to other sweet glycosides. Nitrogen is considered as one of the key elements in the nutrition of crops and the most important element in limiting the plant growth. Due to increased cation exchange capacity and a high tendency to absorb and retain ammonium, use of clinoptilolite on agricultural lands can have an effective role in reduction of nutrient washing especially nitrogen from soil.

Materials and Methods

In order to investigate the effect of different levels of nitrogen and natural zeolite on qualitative and quantitative yield of Stevia in Ahvaz climate, a trial agricultural research field was selected at the farm of agricultural and natural resources of Ramin Khuzestan in 2012-2013. A split plot experiment in a randomized complete block design with 3 replications was conducted. The levels of nitrogen fertilizer (50, 100, 150 and 200 N kg /ha) were applied in the main plots and based on similar studies, the levels of zeolite (including zero, 3 and 6 tons per hectare) were applied in subsidiary plots. Transplants were cultured in 2013/3/6. Harvest was done after growth and development of plant in 2013/6/10. In order to determine the performance of harvested plants from each plot, after packaging and label-making, the samples were weighted in order to estimate the wet weight. The samples were dried in an oven at 72 °C for 48 hours and reweighted again, and then the dried matter performance was determined. To measure the percentage of steviozide, leaf samples were collected from each plot and dried in an oven at 70 °C for 48 hours, then they were milled, powdered and half a gram of Stevia leaves powder in 50 ml of 70% ethanol was obtained from each sample plot. The Stevia leaf steviozide percentage was measured using a HPLC device. Before the analysis the device was calibrated.

Results and Discussion

Results showed that the highest biological performance (2253 kg ha⁻¹), the highest leaf performance (1426 kg ha⁻¹), the maximum stem diameter (1.66 cm), the maximum height (69 cm) and the maximum leaf area index (4.88) were obtained at the treatment of 200 kg nitrogen per hectare and the largest number of branches per plant was obtained in the 150 N kg /ha-1 treated with the use of 6 tons zeolite. Maximum percentage of steviozede (10.67) was related to 150 kg pure nitrogen per hectare with 3 tons of zeolite. LAI as a minor component of plant growth was affected directly by nitrogen fertilizer, by increasing the fertilizer, growth and leaf area of plant per

1, 2 & 3- Professor, Associate Professor and Assistant Professor, Khuzestan Ramin University of Agriculture and Natural Resources, Respectively

4- MSc student in Agronomy, Khuzestan Ramin Agricultural and Natural Science University

(* - Corresponding Author Email: reiszadeh.m@gmail.com)

square meter will be added. Leaves of the plant that consist the most part of the plant, were influenced by nitrogen fertilizer, with increasing nitrogen, growth and performance of leaves were also increased. The zeolites reduced the amount of nitrogen leaching in the soil due to frequent watering that plant needs. As a result, the plant uses nitrogen and other elements that all are useful in the vegetative growth, effectively. According to the results, interaction effect of nitrogen fertilizer and zeolite levels on the SPAD reading was significant at one percent level. The presence of nitrogen in chlorophyll causes the significant effect of increasing nitrogen fertilizer on chlorophyll content of leaves. Existence of chlorophyll as a light absorbent and synthesis of materials is vital for plant growth. The use of zeolites increases the soil cation exchange capacity and consequently the efficiency of nitrogen fertilizer in the soil. So the plant can use fertilizers better and subsequently vegetative growth increases. According to the results, there is a close relationship between supplying food components and accumulation of glycosides steviol in Stevia.

Conclusions

Stevia is a plant with few years life with several times harvesting each year. This plant was cultivated in 2013/3/6 and harvested in 2013/6/10. Results showed although Stevia was planted for the first time in the study area it had consistency with the regional climate. Use of nitrogen fertilizer and zeolite had a significant effect on chlorophyll components and biological performance of leaves and also on morphological characteristics of plant and nitrogen fertilizer. The zeolites increased cation exchange capacity of the soil which enhanced the efficiency of nitrogen fertilizer in the soil and resulting in the better usage of fertilizers by the plants and increasing the vegetative growth (biological and leaf yield) and percentage of steviozede.

Keywords: Biological performance, Leaf yield, Steviozede